

Dopaminergic signalling in *Drosophila melanogaster* – Insights into the control of metabolism and behaviour

**Dopaminvermittelte Signalwege in *Drosophila melanogaster* –
Einblicke in die Steuerung von Metabolismus und Verhalten**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Stella S. Nolte

Kiel, 2017

Erster Gutachter: Prof. Dr. Thomas Roeder

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Holger Heine

Tag der mündlichen Prüfung: 12.04.2017

Zum Druck genehmigt: 12.04.2017

Prof. Dr. Natascha Oppelt, Dekanin

SUMMARY

The biogenic amine dopamine (DA) is a central messenger implicated in various physiological tasks from invertebrates to men. Its major neurotransmitter functions encompass higher order cognitive processes, such as learning and memory, reward signalling, the control of endocrine function as well as locomotor control and sleep modulation. As a requirement for the diversity of physiological and behavioural roles, DA signalling is mediated by a complex interplay of molecular and cellular/neuronal elements. Impairments in this system lead to severe disease phenotypes, as it is the case for Parkinson's disease and schizophrenia. A more detailed understanding of normal physiological and pathophysiological processes is necessary in the development of new therapeutic strategies. However, the mammalian brain is complex; the employment of a "simpler" model to facilitate the deeper insight into the molecular processes is beneficial in this context. In this study, I have employed the fruit fly *Drosophila melanogaster* as a model organism to contribute to the understanding of the functions and elements of dopaminergic signalling. *Drosophila* possesses four DA binding receptors, DopR, DopR2, D2R and DopEcR. I have focused on the potential metabolic implications of DopR and D2R as well as their regulatory roles in activity and sleep behaviour.

DopR is broadly expressed in the central nervous system and in peripheral tissues of the fly. So far, it is known to hold central functions in memory formation and the modulation of arousal. By employing *DopR*-deficient flies (*dumb*² mutants) we have found several indications for an involvement of the receptor in metabolic functions in a potential sex-specific manner. *DopR*-deficient males show an excretory phenotype as well as impaired sleep behaviour and both traits were unchanged in females. However, potential reasons for this are currently unknown.

We have furthermore identified DopR as a possible upstream modulator of the diuretic hormone 44 (Dh44), which represents the fly homolog of the mammalian *corticotropin releasing* hormone. Via modulation of Dh44 signalling, DopR might be involved in water-retention mechanisms and Dh44-mediated activity enhancement.

D2R is the sole inhibitory DA binding receptor in the fly. D2R mutants possess a strong metabolic phenotype with an affected life expectancy and reduced body fat levels. A previous study identified a disturbance in the feeding initiation process, which, however, does probably not reduce food intake. The mutant might suffer from increased energy expenditure due to elevated activity levels (see below) but a general impairment in fat metabolism is conceivable.

Moreover, D2R mutants show an unusual activity pattern. The flies are more active during the day and sleep more during the night than corresponding controls. The latter might represent a sleep rebound effect arising from increased daytime activity. However, the reduction in sleep during the day might be attributed to the absence of D2R-mediated inhibition of the DA arousal signal. In this regard, its expression in cells of the circadian clock system (LN_{vs}) might be of central relevance. D2R is furthermore expressed in several light-receptive organs/cells that forward light information to the circadian clock system. However, potential receptor functions and contributions to the above described activity phenotype remain to be studied.

ZUSAMMENFASSUNG

Das biogene Amin Dopamin ist ein zentrales Signalmolekül, welches in vielfältigen physiologischen Prozessen beteiligt ist; konservierte Funktionen reichen von Wirbellosen bis zum Menschen. Die Hauptfunktionen als Neurotransmitter betreffen kognitive Prozesse wie Lernen und Gedächtnisfunktion, das Belohnungssystem, die Regulation des endokrinen Systems, Bewegungskontrolle und die Modulation des Schlafverhaltens. Der dopaminergen Signalübertragung liegt ein komplexes Zusammenspiel molekularer und zellulärer/neuronaler Elemente zugrunde, welches die Basis für die Diversität der Funktionen in Physiologie und Verhalten darstellt. Störungen in diesem System führen zu schweren Krankheits-Phänotypen, wie im Fall von Morbus Parkinson und Schizophrenie. Für die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien ist eine genauere Kenntnis der normalen physiologischen und pathophysiologischen Prozesse des Dopaminsystems notwendig. Jedoch ist das Säugetiergehirn komplex und die Verwendung eines „einfacheren“ Modells von Vorteil, um einen tieferen Einblick in die molekularen Mechanismen zu erhalten. In der vorliegenden Studie wurde die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* als Modelorganismus verwendet, um zum Verständnis der Funktionen und Elemente des dopaminergen Systems beizutragen. In *Drosophila* sind vier dopaminbindende Rezeptoren bekannt, DopR, DopR2, D2R und DopEcR. Diese Arbeit konzentriert sich auf die potentiellen metabolischen Funktionen von DopR und D2R, sowie deren Beteiligung an der Kontrolle von Aktivität und Schlafverhalten.

DopR besitzt ein breites Expressionsmuster im zentralen Nervensystem und peripheren Organen in der Fliege. Bisher ist bekannt, dass der Rezeptor eine zentrale Bedeutung bei der Gedächtnisbildung innehat und an der Modulation des Wachheitszustands beteiligt ist. Durch Einsatz *DopR*-defizienter Fliegen wurden Hinweise auf metabolische Funktionen des

Rezeptors gefunden, die sich möglicherweise geschlechtsspezifisch äußern. So zeigen die *DopR*-defizienten Männchen einen Phänotyp in der Exkretion und im Schlafverhalten, welcher in entsprechenden Weibchen nicht gefunden wurde. Die möglichen Gründe sind bisher nicht bekannt.

Des Weiteren konnte DopR als potentieller übergeordneter Modulator des Diuretischen Hormons 44 (DH44) identifiziert werden, welches das Fliegenhomolog des in Säugetieren vorhandenen *Corticotropin-releasing* Hormons darstellt. Durch die Modulation von DH44 könnte DopR an Wasserretentionsmechanismen beteiligt sein, sowie an einer durch DH44 vermittelten Aktivitätssteigerung.

D2R ist der alleinige inhibitorische dopaminbindende Rezeptor in der Fliege. D2R-Mutanten zeigen einen klaren metabolischen Phänotyp durch eine beeinträchtigte Lebensspanne und reduzierten Körperfettgehalt. Eine vorangegangene Studie zeigte Störungen bei der Einleitung des Nahrungsaufnahmeprozesses, welche jedoch nicht zu verminderter Nahrungsaufnahme führen. Es ist möglich, dass die Mutante unter einem erhöhten Energieverbrauch leidet, welcher aus einem gesteigerten Aktivitätslevel resultieren könnte (s.u.), jedoch ist auch eine Störung des Fettstoffwechsels denkbar.

Darüber hinaus zeigen D2R-Mutanten ein ungewöhnliches Aktivitätsmuster. Im Vergleich zu entsprechenden Kontrollen zeigen die Fliegen am Tag eine gesteigerte Aktivität sowie eine Steigerung des Schlafs in der Nacht. Letzteres könnte einen Mechanismus darstellen, um die gesteigerte Tagesaktivität zu kompensieren. Die reduzierte Schlafmenge am Tag könnte mit dem Fehlen der normalerweise durch D2R vermittelten Inhibition des Dopamin-„Wachsignals“ in Verbindung stehen. In diesem Zusammenhang könnte die Expression des Rezeptors in Zellen der endogenen Uhr (LN_vs) eine zentrale Relevanz haben. D2R ist des Weiteren in mehreren Lichtempfangsorganen/-zellen exprimiert, welche Lichtinformation an die endogene zirkadiane Uhr weiterleiten. Potentielle Rezeptorfunktionen in diesen Systemen und die Beteiligung der Systeme am beschriebenen Phänotyp der Mutante müssen noch herausgestellt werden.